昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，October 2002，45（5）：567－570　　ISSN 0454-6296

不同转基因抗虫棉对棉铃虫抗虫性的时空动态

芮昌辉[1]，范贤林[1]，董丰收[1]，郭三堆[2]
（1. 中国农业科学院植物保护研究所，北京　100094；2. 中国农业科学院生物技术研究所，北京　100081）

摘要：利用2个对Bt抗性水平不同的棉铃虫品系，测定了转*Bt*和*CpTI*基因双价抗虫棉（SGK321）和Bt棉（GK12，33B）杀虫活性的时间和空间动态变化。结果表明，2类3种抗虫棉杀虫活性共同表现为：（1）时间动态上均呈现前高后低的下降趋势；（2）空间动态上表现为，在生长前期以叶的活性最高，中后期以铃和蕾的活性较高；（3）对敏感品系的活性高于对抗性品系。不同点表现为：（1）双价棉在生长中后期（8～9月份）活性明显高于Bt棉；（2）双价棉对抗性品系的活性表现更稳定。

关键词：棉铃虫；转基因抗虫棉；杀虫活性；抗性
中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）05-0567-04

Temporal and spatial dynamics of the resistance of transgenic cotton cultivars to *Helicoverpa armigera*（Hübner）

RUI Chang-Hui[1]，FAN Xian-Lin[1]，DONG Feng-Shou[1]，GUO San-Dui[2]（1. Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences（CAAS），Beijing　100094，China；2. Biotechnology Research Institute，CAAS，Beijing　100081，China）

Abstract: Temporal and spatial insecticidal activities of three different transgenic cotton cultivars were evaluated: NuCOTN 33B cultivar expressing *Cry1Ac* insecticidal protein gene from *Bacillus thuringiensis*（Bt），developed by the Monsanto Company；GK12 expressing modified *Cry1A Bt* gene，developed in China；and SGK321 expressing both *Bt* and cowpea trypsin inhibitor（*CpTI*）genes，also developed in China. Two strains of cotton bollworm（CBW），*Helicoverpa armigera*（Hübner）with different susceptibility to Bt were used. Insecticidal activity in all three cultivars declined through time as plants grew，leaves had the highest insecticidal activity early in the growing season，but bolls and square showed higher insecticidal activity in the middle or late growing season. All three cultivars showed higher insecticidal effect against the susceptible strain of CBW than against the resistant strain of CBW. SGK321 had significantly higher insecticidal activity to CBW in the middle and late growing season（August and September），and also displayed more consistent resistance to the resistant strain of CBW compared to the other two cultivars.

Key words: *Helicoverpa armigera*；transgenic insect-resistant cotton；insecticidal activity；resistance

转基因抗虫棉花以其显著的经济、生态和社会效益倍受人们青睐，近年来在国内外种植面积迅速增长，我国自1996年开始少量种植抗虫棉，至1999年种植规模已近900万亩（汪若海和李秀兰，2000；茹李军等，2002）。目前在我国田间种植的转基因抗虫棉品种可分为3大类：（1）转苏云金杆菌（*Bacillus thuringiensis*，Bt）杀虫晶体蛋白（insecticidal crystal protein，ICP）基因抗虫棉（郭三堆，1995），包括我国研制的国抗（GK）系列Bt棉和美国Bt棉（33B）；（2）转Bt和豇豆胰蛋白酶抑制剂（cowpea trypsin inhibitor，CpTI）双基因抗虫棉（郭三堆等，1999）；（3）通过杂交方法获得的Bt抗虫杂交棉（贾士荣等，2001）。作者利用2个对Bt抗性水平不同的棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 品系，较系统地比较了2类3种抗虫棉杀虫活性的时间和空间动态变化，为合理利用抗虫棉提供依据。

1　材料与方法

1.1　供试棉花

转 *Cry1A* 型 *Bt/CpTI* 双价基因抗虫棉花（SGK321）、转 *Cry1A* 型 *Bt* 单基因棉花（GK12）由

基金项目：国家863项目（z17-02-02）
第一作者简介：芮昌辉，男，1964年3月生，博士，副研究员，从事害虫抗药性研究，E-mail：prgh@95777.com
收稿日期 Received：2001-07-06；接受日期 Accepted：2002-01-14

中国农科院生物技术所提供。美国 Bt 棉（转 *Cry*1*Ac Bt* 基因，33B）、常规棉（492），为河北省市售棉种。供试棉花于 4 月 29 日播种，常规栽培管理，不使用任何农药。

1.2 供试棉铃虫

1996 年 6 月采自河北、河南和山东 3 省 6 县（市）的棉铃虫成虫，其后代混合后将一部分用人工饲料连续饲养作为敏感品系（CK），另一部分用 Cry1Ac 型 Bt ICP 汰选 35 代后对其抗性指数为 21.4，作为抗性品系（RR）。棉铃虫饲养方法参照范贤林等（1998）。

1.3 对棉铃虫的杀虫活性测定方法

从田间采回棉叶（顶部向下第 3 片真叶）、蕾或铃（直径 14 ~ 16 mm），用 0.1% $NaClO_3$ 溶液消毒 5 min，清水冲洗晾干，每片叶分成 3 小片分别放入直径 5 cm 的双层皿中，每皿 1 小片，蕾或铃放入 10 孔试验盒中，每孔 1 个蕾或铃。将清晨新绽开的花采回，在室内紫外灯下消毒 15 min，放入塑料杯中，每杯 1 朵。然后，在每皿、孔或杯中接入 1 日龄幼虫 2 头，每 20 头为 1 个重复，每处理 3 ~4 次重复。叶、蕾或铃处理接虫后加保鲜膜加盖，花处理接虫后在杯口加卫生纸，并用皮筋勒紧，置于 27 ± 1℃、光周期 L:D = 14:10 的培养箱中。3 天后将存活幼虫更换相应棉花器官，并单头饲养，记录 6 天后的幼虫死亡数。用拨针触动虫体完全不动者为死亡判断标准。采用 HSD 检验法比较不同处理平均死亡率间的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 不同抗虫棉的叶和蕾对棉铃虫杀虫活性的时间动态

不同抗虫棉的叶和蕾的杀虫活性测定结果见表 1。2 类 3 种抗虫棉棉叶处理敏感棉铃虫的死亡率在 6 月和 7 月基本一致（88.1% ~ 95.0%），在 8 月和 9 月时 GK12 和 33B 处理的校正死亡率明显下降，显著低于双价棉。对抗性棉铃虫的杀虫活性 GK12 和 33B 在 7 月就开始明显下降，校正死亡率分别为 55.2%和 44.2%，8 月和 9 月仅为 20.0% ~ 26.9%，与常规棉的校正死亡率没有显著差异。而双价棉在 6 月和 7 月还保持较高杀虫水平，8 月和 9 月有所下降，但下降幅度明显低于 GK12 和 33B，即 7 ~ 9 月双价棉对抗性棉铃虫的杀虫活性显著高于单基因抗虫棉。

表 1 不同抗虫棉的叶和蕾对棉铃虫杀虫活性的时间动态

Table 1 Temporal dynamics of insecticidal activity of leaves and square in different transgenic cotton cultivars to *Helicoverpa armigera*

棉铃虫品系 CBW strains	棉花品种 Cotton cultivars	6 天内校正死亡率 Adjusted mortality for 6 days（%）			
		6 月 June	7 月 July	8 月 Aug.	9 月 Sep.
	棉叶 leaf				
敏感品系（CK）	492	20.0 ± 8.2 b	0 b	3.3 ± 3. 3 c	16.7 ± 6.1 b
	SGK321	90.6 ± 4.8 a	95.0 ± 2.3 a	93.1 ± 4.4 a	68.0 ± 4.0 a
	GK12	88.1 ± 2.5 a	93.3 ± 3.3 a	42.1 ± 7.7 b	32.0 ± 4.6 b
	33B	90.0 ± 5.0 a	93.3 ± 2.1 a	63.8 ± 5.2 b	24.0 ± 4.0 b
抗性品系（RR）	492	5.0 ± 5.0 b	3.3 ± 3.3 c	13.3 ± 4.2 b	16.7 ± 6.7 b
	SGK321	76.3 ± 7.5 a	71.0 ± 4.9 a	57.7 ± 3.8 a	44.0 ± 4.0 a
	GK12	71.1 ± 4.8 a	55.2 ± 7.3 b	23.1 ± 7.7 b	23.3 ± 6.1 b
	33B	72.1 ± 2.5 a	44.2 ± 8.4 b	26.9 ± 9.2 b	20.0 ± 7.3 b
	棉蕾 square				
敏感品系（CK）	492	25.0 ± 5.0 b	13.8 ± 8.4 b	26.7 ± 4.0 c	26.7 ± 3.3 c
	SGK321	90.0 ± 1.7 a	100 a	100 a	100 a
	GK12	87.2 ± 4.8 a	93.3 ± 4.2 a	68.8 ± 8.1 b	81.8 ± 4.6 b
	33B	82.5 ± 2.5 a	94.2 ± 3.4 a	89.6 ± 5.2 a b	79.4 ± 4.0 b
抗性品系（RR）	492	5.0 ± 5.0 b	10.0 ± 5.8 c	23.3 ± 6.1 b	23.3 ± 3.3 b
	SGK321	97.4 ± 2.5 a	85.2 ± 9.3 a	91.3 ± 8.7 a	50.4 ± 2.6 a
	GK12	87.4 ± 3.7 a	55.5 ± 3.7 b	30.5 ± 4.3 b	40.0 ± 5.2 a
	33B	90.0 ± 2.5 a	61.1 ± 4.3 b	52.2 ± 4.4 b	34.8 ± 8.5 ab

表中数据是平均值 ± 标准误，同一月份不同处理结果后有不同英文字母表示差异显著（$P < 0.05$，HSD）。下同

The data in the table are mean ± *SE*, and data in the same month followed by different letters are significantly different（$P < 0.05$，HSD）. The same for the following tables

GK12、33B和双价棉棉蕾在6月和7月对敏感品系的杀虫活性相当，8月和9月双价棉的杀虫活性显著高于单价抗虫棉。对抗性品系，GK12和33B的杀虫活性在6月与双价棉相当，从7月份开始下降，8月份的校正死亡率降至与常规棉相当，显著低于双价棉蕾的处理。但9月份2种Bt棉活性有所回升。

2.2 不同抗虫棉的花和铃对棉铃虫杀虫活性的时间动态

不同抗虫棉的花和铃对棉铃虫的杀虫活性时间动态测定结果见表2。2种Bt棉GK12和33B的花在7月份与双价棉SGK321的杀虫活性差异不显著，8月和9月的校正死亡率显著低于双价棉的，特别是对抗性品系，已与常规棉的花表现一样。

Bt棉和双价棉的铃对敏感品系的杀虫活性，在7月、8月和9月均无显著差异，但对抗性品系，双价棉的杀虫活性显著高于2种Bt棉。

表2 不同抗虫棉的花和铃对棉铃虫杀虫活性的时间动态

Table 2 Temporal dynamics of insecticidal activity of flowers and bolls in different transgenic cotton cultivars to *H. armigera*

棉铃虫品系 CBW strains	棉花品种 Cotton cultivars	6天内校正死亡率 Adjusted mortality for 6 days（%）		
		7月 July	8月 Aug.	9月 Sep.
	花 flower			
敏感品系（CK）	492	28.6±6.7 b	26.7±4.2 c	30.0±5.8 b
	SGK321	90.9±2.1 a	86.4±7.9 a	74.5±5.1 a
	GK12	75.6±4.1 a	45.4±6.8 b	45.7±6.2 b
	33B	83.8±3.7 a	40.9±6.5 b	38.8±5.3 b
抗性品系（RR）	492	3.3±2.1 b	20.0±5.2 b	10.0±5.8 b
	SGK321	71.7±4.8 a	67.5±7.5 a	53.4±9.0 a
	GK12	57.1±3.7 a	31.3±2.8 b	13.6±6.2 b
	33B	55.3±7.0 a	45.0±8.5 ab	10.5±3.1 b
	铃 boll			
敏感品系（CK）	492	23.3±3.3 b	23.3±8.0 b	33.3±3.3 b
	SGK321	91.6±3.3 a	88.1±5.2 a	100 a
	GK12	80.3±6.5 a	78.1±2.5 a	93.1±2.2 a
	33B	84.4±2.5 a	82.9±11.5 a	94.9±3.0 a
抗性品系（RR）	492	26.3±8.5 c	26.7±4.9 c	13.3±6.7 b
	SGK321	88.7±2.3 a	75.0±5.0 a	61.1±11.0 a
	GK12	67.5±3.3 b	55.0±8.7 b	19.4±6.7 b
	33B	66.7±5.6 b	45.0±5.0 bc	9.4±5.2 b

2.3 抗虫棉不同器官对棉铃虫杀虫活性的空间动态

表1和表2中的测定结果表明，同一种抗虫棉不同器官的杀虫活性，随抗虫棉品种的生长期不同及棉铃虫抗性水平的不同而变化。双价棉的蕾和铃对敏感棉铃虫的杀虫活性在7~9月比较稳定，对抗性棉铃虫，在7~8月较稳定，但蕾在9月份的杀虫活性下降较明显。叶和花在6~9月对2个棉铃虫品系的杀虫活性均逐渐下降。棉花不同器官对敏感品系在6月、7月和8月的杀虫活性顺序基本为蕾⩾叶>铃>花，9月为铃⩾蕾>花>叶；对抗性品系，6、7和8月为蕾⩾铃>叶⩾花。GK12对棉铃虫敏感品系的杀虫活性顺序，在6~7月为叶⩾蕾>铃>花，在8~9月为铃>蕾>花>叶；对抗性品系，在6月为蕾>叶，在7~8月为铃>蕾⩾花>叶，在9月为蕾>叶>铃>花。抗虫棉33B杀虫活性的空间动态基本与GK12相似。

作者测定双价棉中Bt ICP表达量与Bt棉基本一致，但双价棉的CpTI在棉花生长中后期明显可在一定程度上弥补Bt棉中Bt ICP的下降，表现为双价棉杀虫活性比较稳定，在中后期显著高于Bt棉（范贤林等，2001）。本研究较系统的杀虫活性时空动态测定结果表明，对棉铃虫敏感品系，在6、7月份，3种抗虫棉活性相当，8月份后，双价

棉活性明显高于 2 种抗虫棉。对抗性品系，除 6 月份 3 种抗虫棉活性相当外，在其他月份双价棉活性均高于 2 种抗虫棉。

有报道，Bt 棉在 7 月份的杀虫活性顺序为叶 > 蕾 > 铃 > 花（赵建周等，1998），与本文作者测定结果一致。但本研究系统测定了抗虫棉在整个生长期不同器官的杀虫活性顺序，结果表明抗虫棉的叶、蕾、花和铃的杀虫活性是随抗虫棉品种、生长期不同及棉铃虫抗性水平的不同而变化的，更全面地反映出了抗虫棉杀虫活性的动态变化特性。

理论和实践均证明，转双或多基因抗虫植物具有延缓害虫抗性的作用（Roush，1998；Zhao *et al*.，1999）。本实验结果也证明双价棉对抗性和敏感棉铃虫的杀虫活性在时空动态上均比单价 Bt 棉更理想，因此，可望在今后的棉铃虫抗性治理中发挥作用。

参 考 文 献 （References）

Fan X L，Ru L J，Wei C，1998. A new box for rearing *Helicoverpa armigera*. *Plant Protection*，24（4）：41 – 42.［范贤林，茹李军，魏岑，1998. 一种新型棉铃虫实验盒的设计与应用. 植物保护，24（4）：41 – 42］

Fan X L，Rui C H，Xu C R，Meng X Q，Guo S D，Zhao J Z，2001. Resistance of transgenic cottons expressing *Bt* and *CpTI* insecticidal protein genes to *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomol. Sin.*，44（4）：582 – 585.［范贤林，芮昌辉，许崇任，孟香清，郭三堆，赵建周，2001. 转双基因抗虫棉对棉铃虫的抗性. 昆虫学报，44（4）：582 – 585］

Guo S D，1995. Engineering of insect-resistant plant with *Bacillus thuringiensis* crystal protein genes. *Scientia Agricultura Sinica*，28（5）：8 – 13.［郭三堆，1995. 植物 Bt 抗虫基因工程研究进展. 中国农业科学，28（5）：8 – 13］

Guo S D，Cui H Z，Xia L Q，Wu D L，Ni W C，Zhang Z L，Zhang B L，Xu Y J，1999. Development of bivalent insect-resistant transgenic cotton plants. *Scientia Agricultura Sinica*，32（3）：1 – 7.［郭三堆，崔洪志，夏兰芹，武东亮，倪万潮，张震林，张保龙，徐英俊，1999. 双价抗虫转基因棉花研究. 中国农业科学，32（3）：1 – 7］

Jia S R，Guo S D，An D C，2001. Transgenic Cotton. Beijing：Science Press. 174 – 175.［贾士荣，郭三堆，安道昌，2001. 转基因棉花. 北京：科学出版社. 174 – 175］

Roush R T，1998. Two-toxin strategies for management of insecticidal transgenic crops：Can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* B，35：1 777 – 1 786.

Ru L J，Zhao J Z，Rui C H，2002. A simulation model for adaptation of cotton bollworm to transgenic Bt cotton in northern China. *Acta Entomol. Sin.*，45（2）：153 – 159. ［茹李军，赵建周，芮昌辉，2002. 华北地区棉铃虫对转 Bt 基因抗虫棉抗性适应的模拟模型（英文）. 昆虫学报，45（2）：153 – 159］

Wang R H，Li X L，2000. Present situation and proposals for the application of transgenic insect-resistant cotton in China. *Biotechnology Information*，5：1 – 6.［汪若海，李秀兰，2000. 我国转基因抗虫棉应用现状及建议. 生物技术通报. 5：1 – 6］

Zhao J Z，Zhao K J，Lu M G，Fan X L，Guo S D，1998. Interactions between *Helicoverpa armigera* and transgenic Bt cotton in north China. *Scientia Agricultura Sinica*，31（5）：1 – 6.［赵建周，赵奎军，卢美光，范贤林，郭三堆，1998. 华北地区棉铃虫与转 Bt 杀虫蛋白基因棉花间的互作研究. 中国农业科学，31（5）：1 – 6］

Zhao J Z，Fan Y L，Fan X L，Shi X P，Lu M G，1999. Evalution of transgenic tobacco expressing two insecticidal genes to delay resistance development of *Helicoverpa armigera*. *Chinese Science Bulletin*，44（20）：1 871 – 1 874.